

Uma variante do gene *WNK4* está associada à osteoporose mas não à hipertensão na população Portuguesa

Ana Isabel Mendes¹, Mario R. Mascarenhas², Sónia Matos¹, Inês Sousa¹, Joana Ferreira², Ana Paula Barbosa², Manuel Bicho² e Peter Jordan¹

¹Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Lisboa

²Faculdade de Medicina, Universidade de Lisboa



Doenças hereditárias raras da homeostase electrolítica

<i>Doença</i>	<i>Mutação/Tipo de canal</i>	<i>Fenótipos da doença</i>
Doença de Liddle	Canal epitelial de Na ⁺ ENaC	Hipertensão Absorção excessiva de Na ⁺ no nefrónio distal
Pseudohipoaldosteronismo tipo I (PHA-1)	Canal epitelial de Na ⁺ ENaC	Hipotensão desperdício renal de sais e ausência de resposta à aldosterona
Síndrome de Gitelman	co-transportador Na/Cl NCC	Hipotensão hipocalciúria, hipomagnesaemia, alcalose hipokalémica
Síndrome de Bartter tipo I	co-transportador NKCC2	
Pseudohipoaldosteronismo tipo II (PHA-2)	WNK4, WNK1 (regulam ROMK, NCC, fluxo para-celular de Cl ⁻)	Hipertensão, (Hipercaleiúria) hiperkaliémia, acidose hiperclorémica
Doença de Dent	Canal de Cl ⁻ CLC-5	Formação de pedras renais, proteinúria
Síndrome de Bartter tipo III	Canal de Cl ⁻ ClC-Kb,	Hipercaleiúria , Desperdício renal de sais, alcalose hipokalémica
Síndrome de Bartter tipo II	Canal de K ⁺ ROMK1	Hipercaleiúria , Desperdício renal de sais, alcalose hipokalémica

Pseudo-hipoaldosteronismo tipo 2

ou: Síndrome de Gordon

ou: Hipertensão hiperkalémica familiar (FHH)

- **doença familiar, autossômica dominante**

causa: mutações nos genes *WNK1* ou *WNK4*

- **hipertensão média ou alta (sensível a doses baixas de tiazidas)**

níveis normais de aldosterona, níveis baixos de renina

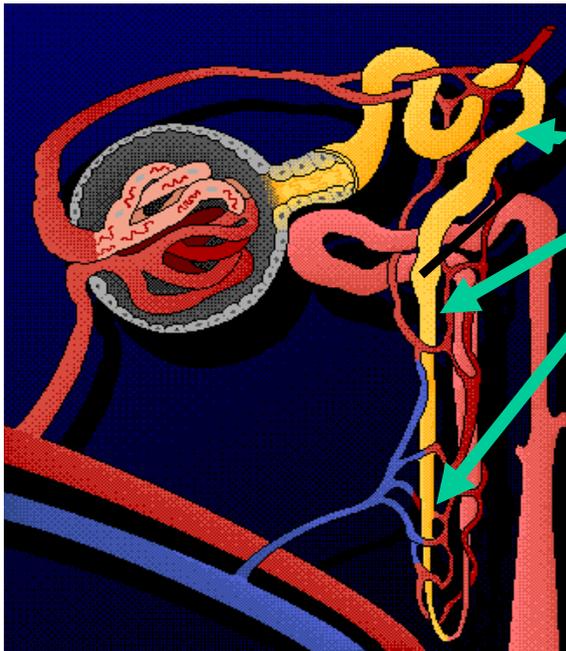
filtração glomerular normal

hiperkaliémia (plasma >5.5 mmol/l)

hipercalciúria (só *WNK4*)

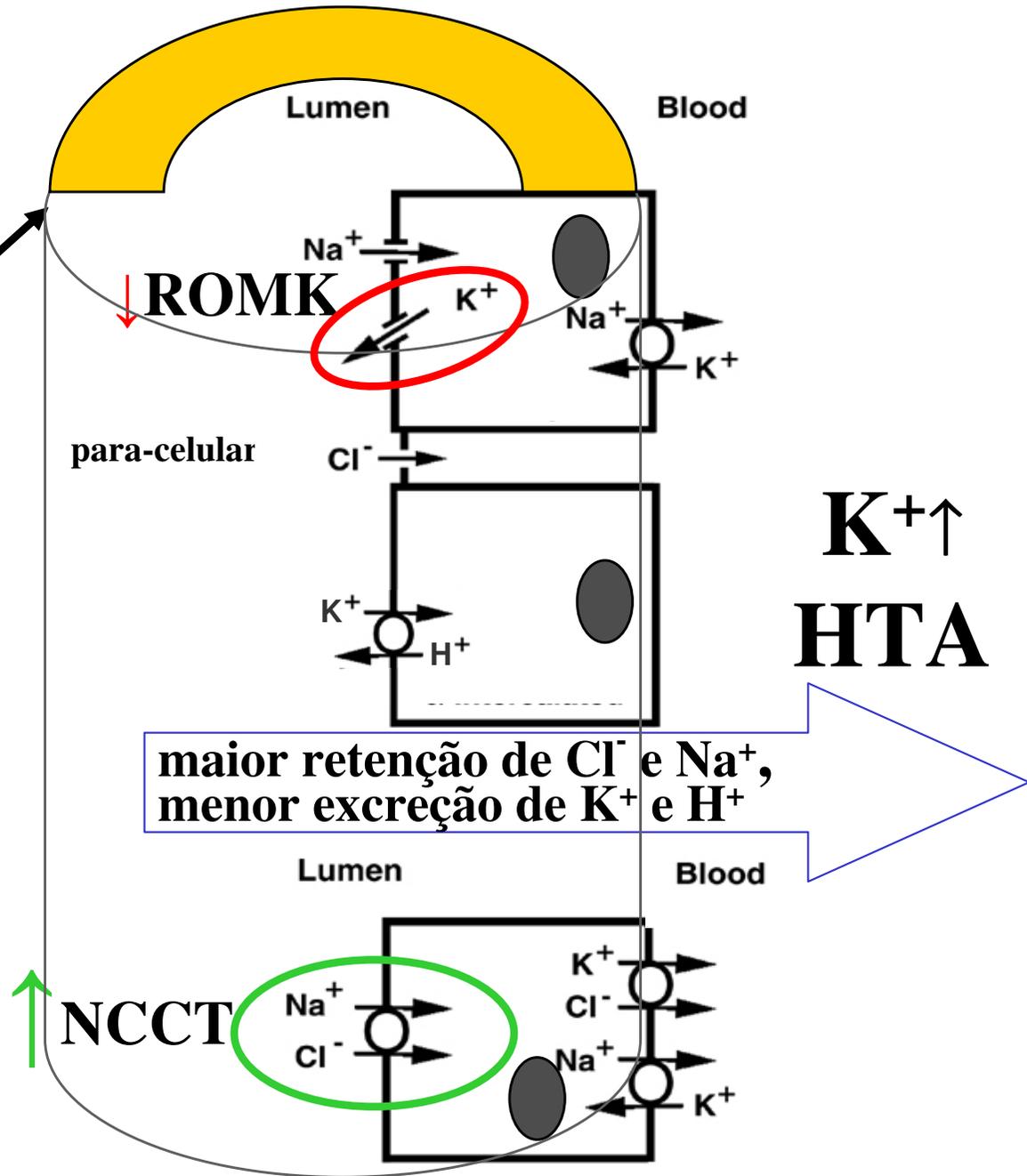
Modelo da fisiopatologia renal em doentes PHA2

nefrónio



Ducto Colector

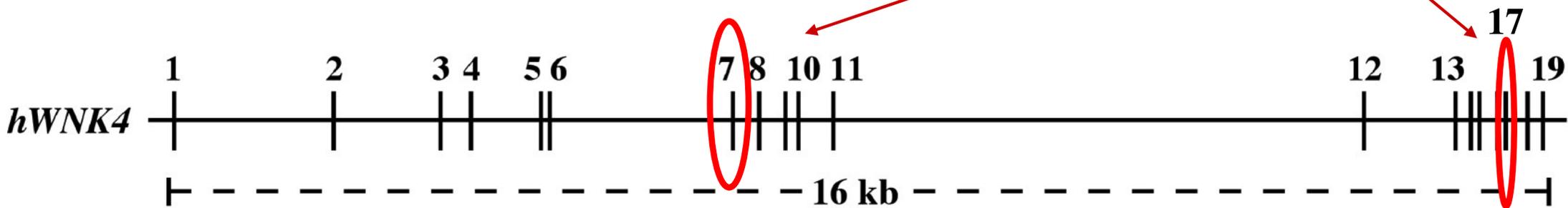
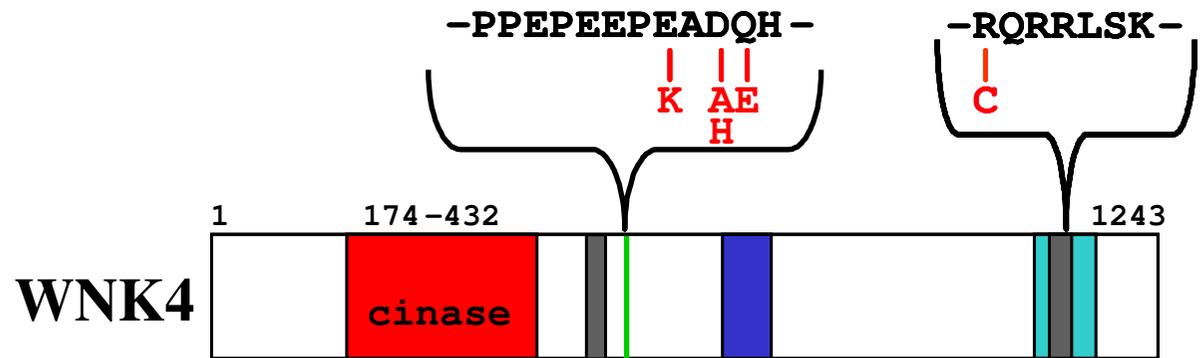
WNK1
WNK4



Hipótese

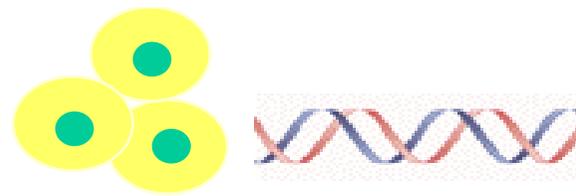
**Variantes polimórficas de *WNK4* na população geral
contribuem para uma predisposição genética
à hipertensão essencial ou à osteoporose**

As mutações no *WNK4* em doentes PHA2



→ **PCR + dHPLC + sequenciação**
WNK4 ex 7 e 17

Material Biológico



DNA

Clinica Endocrinologia e Laboratório de Genética, FML Lisboa

- 271 indivíduos saudáveis (grupo controlo)
- 153 indivíduos normotensos com osteopenia
- 88 indivíduos normotensos com osteoporose
- 317 indivíduos hipertensos
- 69 indivíduos hipertensos com osteopenia
- 62 indivíduos hipertensos com osteoporose

Totais:

448 hipertensos - 512 normotensos,
372 DMO baixa - 381 DMO normal

Resultados

Dez variantes genéticas

Exão/Intrão	Nucleótido	Proteína	SNP	Frequência	
IVS6	c.1477(-13)A>G	n. a.	rs61754357	6/601	1.0%
7	c.1523G>A	R508H	rs5599715	1/601	0.2%
7	c.1524 T>C	R508R	rs55879206	2/601	0.3%
7	c.1598T>C	L533P	não designada	1/601	0.2%
7	c.1641C>T	A547A	rs9916754	15/601	2.5%
7	c.1653C>T	P551P	rs55751736	8/601	1.3%
7	c.1664C>G	P555R	rs57737815	4/601	0.7%
7	c.1719 C>T	H573H	rs56243382	2/601	0.3%
IVS16	c.3448(-20)T>C	n. a.	rs61755630	4/960	0.4%
17	c.3610C>T	R1204C	rs56116165	9/960	0.9%

Resultados

Amostra	Grupo de doentes	Exão/intrão	Nucleótido	Proteína	Frequência
201	Normal Control	Ex 7	c.1641C>T	A547A	15/601
261	Normal Control				
D4	Normal Control				
D45	Normal Control				
D109	Normal Control				
1MF	Essential Hypertension				
7MF	Essential Hypertension				
47MF	Essential Hypertension				
66MF	Essential Hypertension				
273	Essential Hypertension				
67G	Pregnancy-induced hypertension				
92G	Pregnancy-induced hypertension				
172	Low BMD + Hypertension				
182	Low BMD + Hypertension				
25	Osteoporosis				
420	Normal Control	Ex 17	c.3610C>T	R1204C	9/960
150	Osteoporosis + Hypertension				
317	Osteoporosis + Hypertension				
699	Osteoporosis + Hypertension				
70	Osteoporosis+ Hypertension				
104	Low BMD				
606	Osteoporosis				
2	Osteoporosis				
514	Osteoporosis				

Grupos comparados	Fisher's exact test			Logistic regression model		
	logOR	IC	<i>P</i> -value	logOR	IC	<i>P</i> -value
Hipertensos <i>versus</i> Controlos	0.38	(-0.70; 2.10)	0,650	0.89	(-1.30; 3,08)	0.428
DMO baixo <i>versus</i> DMO normal	0.92	(0.04; 2.60)	0,020	2.1.2	(0.04; 4.20)	0.046

Resultados significativos estão assinalados em letra gorda.

Abreviaturas: DMO, densitada mineral óssea; IC, intervalo de confiança; logOR, logaritmo odds ratio.

O resíduo de arginina R1204 é altamente conservado

Espécie	Sequência peptídica da WNK4
Man (<i>Homo sapiens</i>)	-SKGSFPTSRRNSLQRSEPPGP-
Chimp (<i>Pan troglodytes</i>)	-SKGSFPTSRRNSLQRSEPPGP-
Gorilla (<i>Gorilla gorilla</i>)	-SKGSFPTSRRNSLQRSEPPGP-
Orangutan (<i>Pongo pygmaeus</i>)	-SKGSFPTSRRNSLQRSEPPGP-
Horse (<i>Equus caballus</i>)	-SKGSFPTSRRNSLQRSEPPGT-
Hedgehog (<i>Erinaceus europaeus</i>)	-SKGSFPTSRRNSLQRSEPLGP-
Cow (<i>Bos taurus</i>)	-SKGSFPTSRRNSLQRSEPLGP-
Pig (<i>Sus scrofa</i>)	-SKGSFPTSRRNSLQRSEPLGP-
Dog (<i>Canis familiaris</i>)	-SKGSFPTSRRNSLQRSEPLGP-
Rabbit (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	-SKGSFPTSRRNSLQRSEPLGP-
Mouse (<i>Mus musculus</i>)	-SKGSFPTSRRNSLQRS ^R DLPGP-
Rat (<i>Rattus norvegicus</i>)	-SKGSFPTSRRNSLQRS ^R DLPGP-

Resultados

- 1) Variantes genéticas do gene *WNK4* são raras na população estudada
- 2) Não se verificou nenhuma associação entre variantes do gene *WNK4* e o fenótipo de hipertensão essencial na população estudada
- 3) Foi identificada, na população portuguesa, uma variante rara num resíduo arginina conservado que está associada à osteoporose
→ Predisposição genética à osteoporose

(poder estatístico, outra população)

Como poderá a variante *WNK4* predispor à osteoporose ?

- *WNK4* tem uma função fisiológica na homeostase renal de Ca^{2+} :
ratinhos transgênicos de PHA2 desenvolvem hipercalciúria;
- Reflexo da relação inversa entre a absorção renal de Na^{+} e Ca^{2+}

Canais renais regulados por *WNK4*

Canal	especificidade	efeito
NCC	cotransporte Na^{+} Cl^{-}	membrana
NKCC2	cotransporte $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}/2\text{Cl}^{-}$	atividade
KCC3	cotransporte $\text{K}^{+}/\text{Cl}^{-}$	atividade
ENaC	canal epitelial de Na^{+}	membrana
ROMK	canal de K^{+}	membrana
TRPV4,5	canais de Ca^{2+}	membrana

→ Estudos funcionais da proteína variante

Agradecimentos

Ana Mendes

Sónia Matos

Inês Sousa

– Instituto Nacional de Saúde

Joana Ferreira, Prof. Dr. Manuel Bicho – Laboratório de Genética, FMUL

Dra Ana Paula Barbosa, Prof. Dr. Mario Rui Mascarenhas –
Serviço de Endocrinologia, HSM e Clínica de Endocrinologia, Diabetes e
Metabolismo de Lisboa, Lda

FCT

Fundação para a Ciência e a Tecnologia
MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E ENSINO SUPERIOR